

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H04088

研究課題名(和文)メカニカルストレスによる運動器炎症の制御機構

研究課題名(英文)Molecular Mechanisms of How Mechanical Stress Regulates Inflammation of Locomotive Organs

研究代表者

澤田 泰宏 (Sawada, Yasuhiro)

国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・病院 臨床研究開発部(研究所併任)・臨床研究開発部長

研究者番号：50313135

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,500,000円

研究成果の概要(和文)：(1) 廃用性筋萎縮には間質液の滞留により局所のマクロファージにシアストレスが加わらなくなったことで増悪する炎症反応が関与していること及びマッサージ様の介入が廃用性筋萎縮の予防・治療となり得ることを示した。(2) 身体運動が骨吸収を抑制することで骨恒常性維持に作用する分子メカニズムを明らかにした。(3) 身体運動による生理的脳機能制御に脳内のメカニカルストレスが関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動の健康維持・増進効果を利用した介入法の開発により、社会を健康で元気にするという本研究の着想の起点となった細胞へのメカニカルストレスによる(慢性)炎症抑制作用のメカニズムを、分子・細胞レベル及び個体レベルで明らかにした。このような、メカニカルストレスによる生体恒常性維持効果に関する基礎研究で得られる知見の蓄積は、安全で安価で、運動ができない障害者にも適用可能な治療法の開発につながる。

研究成果の概要(英文)：(1) We observed that mechanical stress generated during muscle contraction contributes to muscle homeostasis by modulating the function of macrophages in situ. (2) We found that Cas translocates into the nucleus upon fluid shear stress application, alleviates the activity of NF- $\kappa$ B by interfering with its acetylation in the nucleus, and decreases RANKL expression in osteocytes, thereby suppressing the subsequent osteoclastogenesis and maintaining bone homeostasis. (3) We demonstrated that mechanical stimulation to the head recapitulates the effect of exercise on serotonin-induced signaling in the prefrontal cortex neurons through interstitial fluid shear stress.

研究分野：リハビリテーション医学研究・メカノバイオロジー

キーワード：適度な運動 リハビリテーション メカニカルストレス 生体恒常性

## 1. 研究開始当初の背景

現代社会において問題となっている運動器疾患、生活習慣病、認知症、癌といった加齢に伴って生ずる多くの身体障害の病態に炎症が関与する。身体運動には抗炎症・抗老化作用があり、上記障害の予防や治療に有効であるが、運動効果の分子基盤やメカニズムが未解明であり、予防・治療法として最適化されていなかった。さらには、生体における運動の「作用点」や細胞・組織の応答メカニズムはほとんど明らかにされていなかった。また、身体運動をメカニカルストレスと捉えた研究や、臓器・組織の機能制御を物理的力刺激（メカニカルストレス）効果という観点から検討したこれまでの研究はごく限定的であった。

## 2. 研究の目的

運動によって発生するメカニカルストレスが細胞・組織の炎症を制御する分子メカニズムに焦点を当て、身体不活動→運動器の機能低下（炎症）→身体不活動重篤化→身体機能障害増悪という悪循環（図1）と、運動によるこの悪循環からの救済のメカニズムの解明から、不活動あるいは加齢に伴う運動器障害に対する治療法・介入法の開発に繋がる知見を得ることを目的とした。

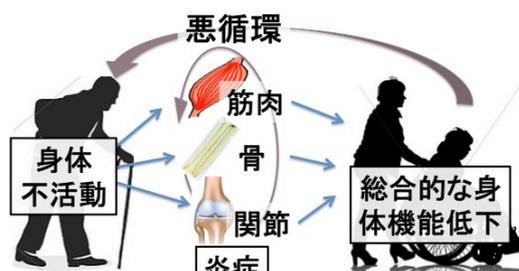


図1. 身体不活動により運動器に生じる炎症を介する生体恒常性破綻の悪循環

## 3. 研究の方法

(1) 不活動によって生じる運動器の機能障害・恒常性破綻を、身体の動きによって組織・細胞にもたらされるメカニカルストレスの不全という視点から解析し、運動効果を個体レベルのメカニカルストレス応答性シグナルで説明する。

(2) 個体レベルの機能改善をもたらすメカニカルストレス応答性シグナルを培養細胞実験にて再現し、細胞レベルで恒常性維持に作用するメカニカルストレスの本態を同定する。

(3) 遺伝子操作・改変を駆使する等により培養細胞メカニカルストレス実験の知見と個体レベルの解析結果の背景にある分子メカニズムを統合的に理解し、生体へのメカニカルストレスの恒常性維持効果の分子基盤確立と最大化・最適化を達成する。

## 4. 研究成果

(1) 骨格筋局所へのメカニカルストレスによる廃用性筋萎縮抑制の分子メカニズムに関する基礎的研究

以下の実験結果を得た。

- ・マイルドな筋収縮時に生じる筋内圧の変化 (50 mmHg) を再現するマッサージ様の局所介入 (局所的周期性圧迫) が、マウス後肢不動化による筋萎縮 (廃用性筋萎縮) を抑制すること
- ・この局所的周期性圧迫による廃用性筋萎縮抑制効果は、単球由来のマクロファージを除去すると消失することなどから、マクロファージにおける炎症反応、分けても MCP-1 発現の抑制が関与していると考えられること

- ・局所的周期性圧迫は組織内の間質液を動かす (間質流を促進する) こと

- ・局所的周期性圧迫がもたらす間質流により間質に存在する細胞に 1 Pa (パスカル) 程度のせん断力刺激 (シアストレス) が加わること

- ・培養マクロファージに 50 mmHg の静水圧を負荷すると炎症反応が促進され、0.5 Pa のシアストレスを負荷すると MCP-1 の発現が抑制されること

これらの知見から、廃用性筋萎縮には間質液の滞留により局所のマクロファージにシアストレスが加わらなくなったことで増悪する炎症反応が関与していること及びマッサージ様の介入が廃用性筋萎縮の予防・治療となり得ることを示し、国際学術誌に論文を発表した (Saitou et al. *Clinical Science* 2018)。

(2) 骨のメカニカルストレス感知機能の分子メカニズムに関する基礎的研究

- ・骨細胞 (オステオサイト) 特異的にメカノセンサー分子 p130Cas の発現を欠失するマウスにおける骨量減少 (図2) のメカニズム詳細な解析を進めた。

- ・p130Cas による炎症関連タンパク質 NF- $\kappa$ B の活性抑制のメカニズムを明らかにし、論文を發

表した (図 3 : Miyazaki et al. *Science Advances* 2019)。

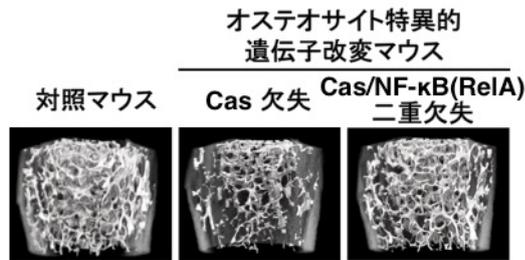


図2. 10週齢マウスの大腿骨遠位部マイクロCT オステオサイト特異的Cas欠失で認められる顕著な骨量低下(中央)が、NF-κB (RelA) との二重欠失で救済される(右)。

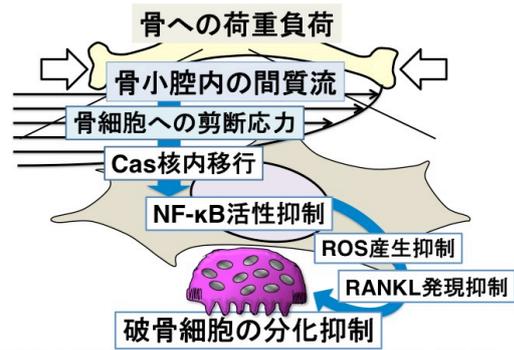


図 3. 発表論文で示した、身体運動が骨吸収を抑制する分子メカニズム。

(3) 生理的な脳機能制御におけるメカニカルストレスの役割に関する基礎的研究

以下の実験結果を得た。

- 動物実験で適度な運動として多用されている中速度トレッドミル走行時に頭部に加わる加速度を計測したところ、約  $1.0 \times g$  の上下方向のピークであった。
- 約  $1.0 \times g$  の上下方向のピーク加速度を再現する受動的頭部上下動を行うと、中速度トレッドミル走行と同様に、高用量セロトニン投与時の幻覚様反応である head-twitch 反応が抑制された。
- その分子メカニズムは前頭前皮質におけるセロトニン 2A 受容体の内在化であった。

これらの知見をまとめ、国際学術誌に論文を発表した (図 4: Ryu et al. *iScience* 2020)。

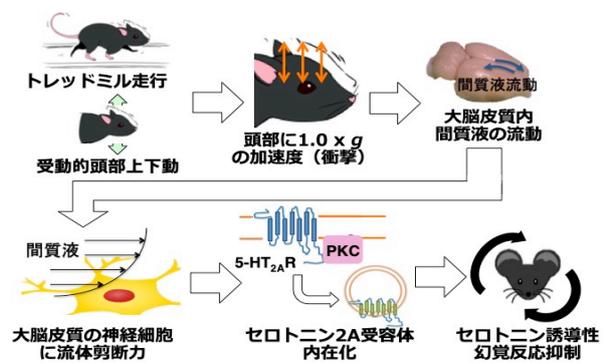


図 4. マウスのトレッドミル走行または受動的頭部上下動による大脳皮質機能制御効果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ryu Youngjae, Maekawa Takahiro, Yoshino Daisuke, Sawada Yasuhiro et al.	4. 巻 23
2. 論文標題 Mechanical Regulation Underlies Effects of Exercise on Serotonin-Induced Signaling in the Prefrontal Cortex Neurons	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 100874 ~ 100874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.100874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki T., Zhao Z., Ichihara Y., Yoshino D., Imamura T., Sawada K., Hayano S., Kamioka H., Mori S., Hirata H., Araki K., Kawauchi K., Shigemoto K., Tanaka S., Bonewald L. F., Honda H., Shinohara M., Nagao M., Ogata T., Harada I., Sawada Y.	4. 巻 5
2. 論文標題 Mechanical regulation of bone homeostasis through p130Cas-mediated alleviation of NF- B activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaau7802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aau7802	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sakitani Naoyoshi, Maekawa Takahiro, Saitou Kumiko, Suzuki Katsuhiko, Murase Shuhei, Tokunaga Masakuni, Yoshino Daisuke, Sawada Keisuke, Takashima Atsushi, Nagao Motoshi, Ogata Toru, Sawada Yasuhiro	4. 巻 151
2. 論文標題 Application of Consistent Massage-Like Perturbations on Mouse Calves and Monitoring the Resulting Intramuscular Pressure Changes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e59475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/59475	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 澤田泰宏	4. 巻 37
2. 論文標題 運動ってなんだ? ~ “Exercise is Medicine” を支えるサイエンスを拓く	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1220~1224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 1.Saitou K, Tokunaga M, Yoshino D, Sakitani N, Maekawa T, Ryu Y, Nagao M, Nakamoto H, Saito T, Kawanishi N, Suzuki K, Ogata T, Makuuchi M, Takashima A, Sawada K, Kawamura S, Nakazato K, Kouzaki K, Harada I, Ichihara Y, Sawada Y	4. 巻 132
2. 論文標題 Local cyclical compression modulates macrophage function in situ and alleviates immobilization-induced muscle atrophy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Science	6. 最初と最後の頁 2147~2161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/CS20180432	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ryu Youngjae, Ogata Toru, Nagao Motoshi, Sawada Yasuhiro, Nishimura Ryohei, Fujita Naoki	4. 巻 35
2. 論文標題 Effects of Treadmill Training Combined with Serotonergic Interventions on Spasticity after Contusive Spinal Cord Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurotrauma	6. 最初と最後の頁 1358~1366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/neu.2017.5400	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 澤田泰宏
2. 発表標題 Exercise is Mechanical Stress
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田泰宏、前川貴郊、崎谷直義
2. 発表標題 細胞のメカニカルストレス応答を介する生体恒常性維持
3. 学会等名 日本生化学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田泰宏、斎藤久美子、徳永正邦、市原克則、吉野大輔、前川貴郊、緒方徹、長尾元史
2. 発表標題 体表からの局所的反復性圧迫は身体不活動により促進される単球/マクロファージの活性を抑制し骨格筋の萎縮を緩和する
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 澤田泰宏
2. 発表標題 身体へのメカニカルストレスとしての運動の抗炎症作用
3. 学会等名 第39回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuhiro Sawada
2. 発表標題 Local Cyclical Compression Modulates Macrophage Function In Situ and Alleviates Immobilization-Induced Muscle Atrophy. 10th Anniversary Symposium, Mechanobiology Institute.
3. 学会等名 10th Anniversary Symposium, Mechanobiology Institute of Singapore（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 澤田泰宏, 崎谷直義	4. 発行年 2018年
2. 出版社 ライフメディコム	5. 総ページ数 2
3. 書名 カレントセラピー	

1. 著者名 澤田泰宏	4. 発行年 2018年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 4
3. 書名 別冊B10 Clinica	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 健康促進装置	発明者 小西あおい, 秋下雅弘, 澤田泰宏他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-104095	取得年 2019年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今村 武史  (Imamura Takeshi)  (00552093)	鳥取大学・医学部・教授   (15101)	
研究分担者	齋藤 琢  (Saito Taku)  (30456107)	東京大学・医学部附属病院・准教授   (12601)	
研究分担者	篠原 正浩  (Shinohara Masahiro)  (60345733)	国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・研究所 運動機能系障害研究部・研究室長   (82404)	
研究分担者	吉野 大輔  (Yoshino Daisuke)  (80624816)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授   (12605)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	原田 伊知郎  (Harada Ichiro)  (00361759)	社会医療法人社団暁水会名戸ヶ谷病院（名戸ヶ谷研究所メカノメディスン部門）・メカノメディスン部門・主任研究員    (92506)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関